

Analyse en CLHP des substances produites par le palmier à huile au cours de l'infection par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*

Perspectives pour la sélection

S. DIABATE (1), B. TAQUET (1), J.-L. RENARD (2), H. de FRANQUEVILLE (1) et P. REISER (1)

Résumé. — Le principe de la technique de chromatographie liquide à haute performance (CLHP) réside en la séparation fine et en la quantification des substances produites dans les racines du palmier à huile non inoculées et inoculées par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*. Les substances sont détectées par absorption dans l'ultraviolet à 280 nm ce qui permet la mise en évidence des dérivés de l'acide benzoïque, de l'acide cinnamique ou des flavonoïdes. Cette technique a permis d'identifier deux groupes de composés jouant un rôle important dans l'expression de la fusariose : l'un d'eux est corrélé significativement au niveau de tolérance exprimé en préépinière, le second participe à l'expression de la maladie en fonction des facteurs climatiques. Le but poursuivi est d'analyser les synthèses de ces composés et de comparer les résultats obtenus avec ceux des indices de préépinière, afin de déceler les potentialités de résistance et les croisements qui se montrent sensibles en plantation.

INTRODUCTION

La fusariose est la maladie la plus importante du palmier à huile en Afrique. La lutte chimique contre un champignon vasculaire d'origine tellurique est impensable actuellement pour une plante pérenne en grande surface et la recherche de matériel végétal tolérant constitue la seule voie qui permette de lutter contre la fusariose. Cette sélection est basée sur le test d'inoculation de jeunes plantules au stade de préépinière et le comportement au champ des palmiers en zone fusariée. Ces tests sont également appliqués aux croisements destinés au test d'aptitude spécifique ou générale à la combinaison et aux introductions de matériel végétal pour dégager les sources possibles de résistance.

Ces recherches ont abouti à bien caractériser le matériel végétal produit par l'IRHO et, sur le plan pratique, seules les catégories de croisements les plus tolérantes sont proposées sur les zones fusariées.

Ce critère de sélection utilisé, bien que performant, ne donne pas une garantie totale sur le comportement des croisements ; entre autres, des croisements résistant au stade de la pépinière manifestent une certaine sensibilité au champ. Or il devient de plus en plus important d'être sévère dans le choix du matériel végétal destiné aux replantations, cette situation étant particulièrement propice au développement de la maladie dans les 4 à 5 premières années qui suivent la plantation. C'est pourquoi une meilleure caractérisation des croisements est devenue nécessaire.

D'une manière générale, on sait qu'au cours des premières semaines qui suivent l'infection des modifications physiologiques importantes interviennent au niveau des racines et des pseudobulbes de la plantule de palmier ; ces substances dérivent de 2 voies de biosynthèses : celle de l'acétyl coenzyme A vers des dérivés des lipides et celle de l'acide shikimi-

que vers des composés phénoliques. Cette dernière semble la plus fortement stimulée. En particulier des dérivés de l'acide benzoïque, des acides cinnamiques ainsi que leurs dérivés et des flavonoïdes s'accumulent dans les tissus.

Ces informations ont paru assez intéressantes pour tenter d'établir des différences de synthèses entre génotypes afin de caractériser les réactions de défense et éventuellement définir des marqueurs de résistance.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

I.1. — Inoculation.

Les plantules sont inoculées au collet selon la méthode standard utilisée dans les tests de routine avec un inoculum provenant d'un broyat d'une culture de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (FOE) sur milieu liquide. Chaque plantule reçoit en moyenne entre 2 et 3×10^6 propagules.

Des plants non inoculés constituent les témoins. Les prélèvements pour analyse sont effectués à des temps variables après l'inoculation : seules les racines sont conservées pour l'analyse.

I.2. — Préparation des extraits bruts.

Après la mesure du poids de tissus frais, les racines sont découpées finement pour constituer un échantillon homogène équivalent à 20 g de poids de tissus frais. Les tissus racinaires sont congelés et conservés au congélateur. Les racines sont ensuite broyées dans un volume de 100 ml d'éthanol froid. Le broyat ainsi obtenu diffuse 24 h à l'obscurité. Les jus de broyage racinaires sont mis à sec sous vide et repris dans un volume de 4 ml d'éthanol.

— Dosage des composés phénoliques totaux.

Le dosage quantitatif des composés phénoliques totaux dans les racines est effectué selon la méthode de Folin

(1) Plantation expérimentale Robert Michaux - B.P. 8 - Dabou - Côte d'Ivoire.

(2) Directeur - Division Phytopathologie IRHO/CTRAD - B.P. 5035 - 34032 Montpellier Cedex - France.

Ciocalteu à équivalence de poids de tissus frais. Elle ne permet pas une évaluation qualitative des produits de nature phénolique élaborés par les tissus racinaires.

— Analyse des extraits racinaires par chromatographie liquide haute performance (CLHP).

La CLHP permet de séparer finement les constituants en mélange dans l'extrait racinaire.

En fonction de leur affinité pour le solvant d'élution, les composés ont des temps de rétention différents sur la colonne de silice.

On procède à une séparation isocratique par paliers où quatre éluents de polarité croissante se succèdent. On obtient ainsi 4 groupes distincts de substance (groupes α , β , γ , δ) détectés en lumière UV par absorption à 280 nm. Ont été identifiés des dérivés d'acide benzoïque, des dérivés d'acide cinnamique ainsi que des flavonoïdes.

Dans le pic α regroupant une grande partie des composés de défense les plus fongitoxiques, on décèle 13 produits de temps de rétention échelonnés entre 2 et 12 min.

Sur ces bases expérimentales, nous présenterons ici les résultats obtenus sur des clones dans trois séries d'essais :

série 130 MV : les analyses ont porté sur des plants inoculés (I) et d'autres non inoculés (NI) ; les prélèvements ont été réalisés 3 et 6 semaines après l'inoculation ;

série 134 MV : cet essai ne comporte que des plants inoculés analysés 3 semaines, 6 semaines et 5 mois après l'inoculation ; ce dernier stade correspond à la fin d'un test de routine en préépinière et permet d'obtenir l'indice du clone ;

série 134 BIS : cet essai particulier comprend la plupart des clones représentés dans la série 134 MV. Des plants inoculés et des plants non inoculés y sont analysés 15 jours, 1 mois, 2 mois et 3 mois après l'inoculation. Les résultats de cette série sont comparés au classement des mêmes clones obtenus dans la série 134 MV.

II. — RÉSULTATS

II.1. — Dosage des composés phénoliques totaux.

Le tableau I compare les résultats des concentrations moyennes en composés phénoliques avec ceux des indices fusariose établis en préépinière par inoculation du FOE. Aucune corrélation significative ne se dégage de cette étude globale faisant intervenir un ensemble de substances, dégradées ou non, dont les rôles respectifs ne peuvent être évalués par cette approche. Une séparation plus fine par CLHP a été entreprise pour améliorer la sensibilité de la méthode.

II.2. — Microanalyse par CLHP.

Les surfaces moyennes de chacun des produits détectés (4 répétitions par traitement) sont regroupées sur un histogramme, cela permet d'obtenir pour chaque clone un profil chromatographique moyen.

II.2.1. — Réponse globale à l'inoculation.

Les figures 1a et 1b présentent l'état comparatif des synthèses 15 jours et 1 mois après l'inoculation sur des plants inoculés (I) et des plants non inoculés (NI). Au premier stade (15 jours) le matériel inoculé, tous clones confondus, manifeste, pour l'ensemble des pics, des niveaux de synthèse nettement supérieurs aux témoins non inoculés (Fig. 1a). La production des composés 0 et 9 semble indépendante de l'inoculation : par contre on observe une forte synthèse pour les plants inoculés au niveau des pics 5, 6, 7 et 8. Un mois après l'infection, la réponse de la plante est encore observable bien que d'une amplitude moindre (Fig. 1b). Entre 15 jours et 1 mois après l'inoculation, on constate une forte diminution des surfaces chez les plants inoculés (Fig. 2) et un niveau de production constant chez les plants non inoculés (Fig. 3).

TABLEAU I. — Teneurs en composés phénoliques totaux (équiv. Ac. chlorogénique/g de tissu frais)
Relation avec les indices de préépinière — (Total phenolic compound contents
— in equiv. chlorogenic Ac./g fresh tissue — Relationship with prenursery indexes)

CLONES LMC	Indices séries		130 MV				134 MV			134 bis							
	134 MV	130 MV	NI 3S	NI 6S	I 3S	I 6S	I 3S	I 6S	I 5M	NI 15	NI 1M	NI 2M	NI 3M	I 15J	I 1M	I 2M	I 3M
077	39						2 333	2 416	1 850	2 069	2 171	1 945	1 537	2 553	2 066	1 666	2 227
022	42	14	1 901	1 691	2 233	1 388	2 208	2 481	2 203	1 825	2 372	2 438	1 987	2 949	3 658	2 161	2 863
044	60	87	2 308	1 427	1 529	1 787	3 439	2 989	1 908								
103	66	60	2 738	2 112	2 676	2 605	2 567	3 465	2 263								
057	49	24					3 066	3 381	3 208	1 993	3 448	2 290	2 895	2 869	3 053	2 323	3 304
063	91	91	2 675	2 546	2 076	2 375	2 946	3 260	2 321	1 975	2 516	2 572	2 065	3 175	2 007	2 513	2 570
065	108	147	2 494	2 025	1 483	1 914	3 146	3 272	2 103	3 050	2 522	2 503	1 738	3 106	2 649	2 227	2 157
037	112	77	2 635	2 665	2 062	1 724	3 224	2 501	2 772								
052	123	147	2 939	2 829	2 255	2 652	3 144	2 995	2 302	2 793	3 061	2 375	2 540	3 395	2 335	1 998	2 260
020	133	129	2 445	1 736	1 291	2 000	2 247	2 005	2 036	2 721	1 757	1 250	1 697	2 653	1 502	1 900	1 909
042	140	119	2 273	1 584	1 538	1 529	2 665	2 684	2 667								
051	154	147	2 073	1 588	2 069	2 092	2 084	3 400	2 359	1 966	2 281	2 213	1 625	2 624	1 866	1 840	2 422
074	189	227	1 781	1 531	1 459	1 928	2 639	3 203	2 091	2 590	1 888	2 277	3 181	2 071	2 171	1 639	1 812
Série (Set) 130 MV			— 0,2	— 0,07	— 0,53	0,19				0,48			0 16	— 0,45	— 0,65	— 0,7	— 0,89
Série (Set) 134 MV							— 0,05	0,19	0,36	0,44	— 0,27	— 0,13	0,48	— 0,4	— 0,5	— 0,32	— 0,65

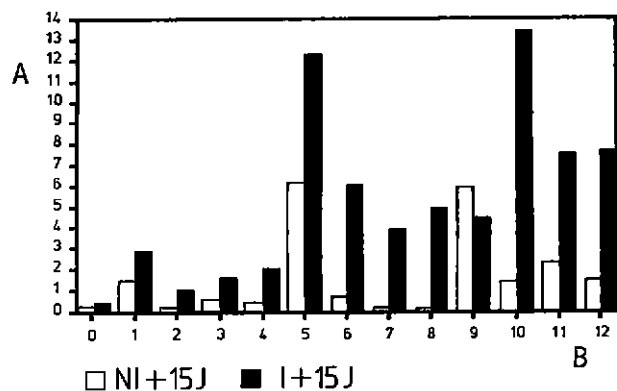


FIG 1a. — Réponse à l'inoculation, moyennes sur 11 clones — (*Response to inoculation, means of 11 clones*)

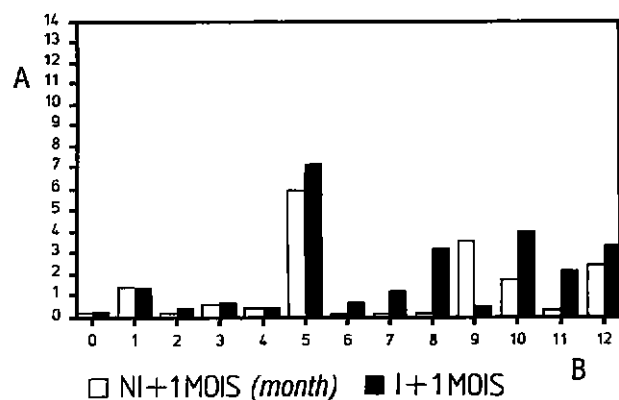


FIG 1b. — Réponse à l'inoculation (i + 1 mois) moyennes sur 11 clones — (*Response to inoculation — i + 1 month — means of 11 clones*).

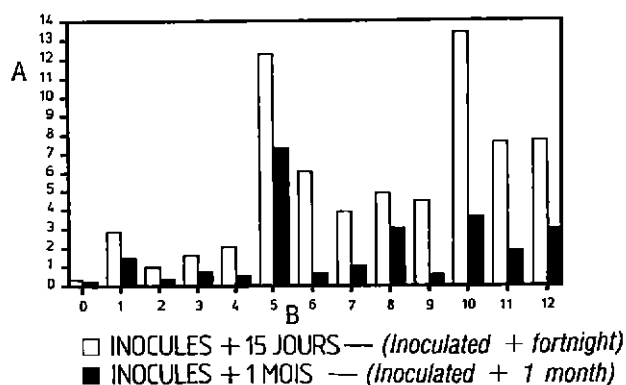


FIG 2 — Evolution des synthèses, moyennes sur 11 clones — (*Synthesis evolution — means of 11 clones*)

A Surfaces/100 (milliers) — (*Areas/100 - thousands*)
B N° de Pic — (*Peak N°*)

Ces résultats montrent que la voie biochimique des mécanismes de réaction de défense du palmier au FOE se met en place rapidement et que le maximum de synthèse se situe au cours du premier mois qui suit l'infection. Les constituants

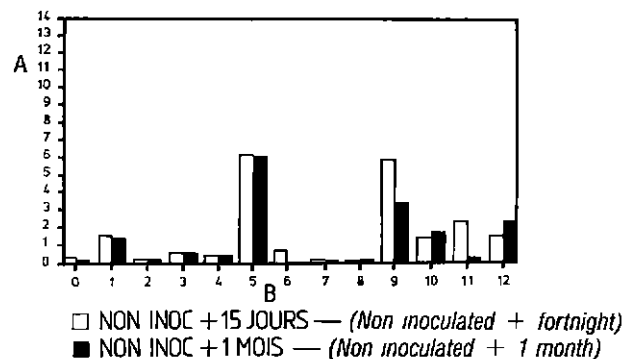


FIG. 3. — Evolution des synthèses, moyennes sur 11 clones — (*Synthesis evolution — means of 11 clones*).

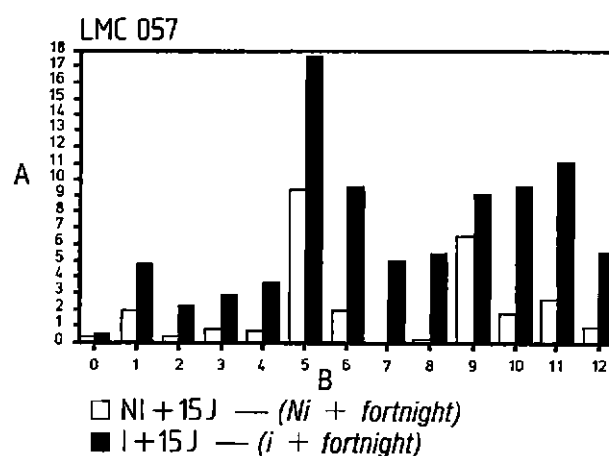


FIG 4a — LMC 057 (tolérant) — (*LMC 057 — tolerant*).

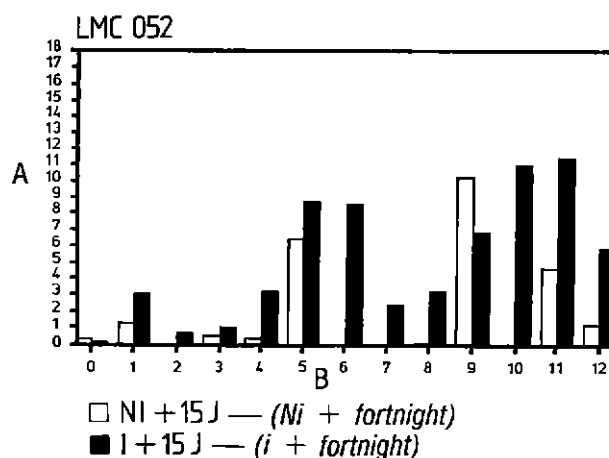


FIG. 4b — LMC 052 (sensibile) — (*LMC 052 — susceptible*).

les plus affectés correspondent aux pics 5 à 12, avec un maximum de stimulation des synthèses sur les pics 6, 7, 8 et au contraire, une régression des synthèses sur le pic 9, plus nette à 1 mois qu'à 15 jours.

II.2.2. — Réponse individuelle des clones.

Les profils chromatographiques des clones LMC 057 tolérant (indice 37) et LMC 052 sensible (indice 135) sont présentés dans les figures 4 et 5. L'analyse de ces histogrammes 15 jours et 1 mois après inoculation montre que :

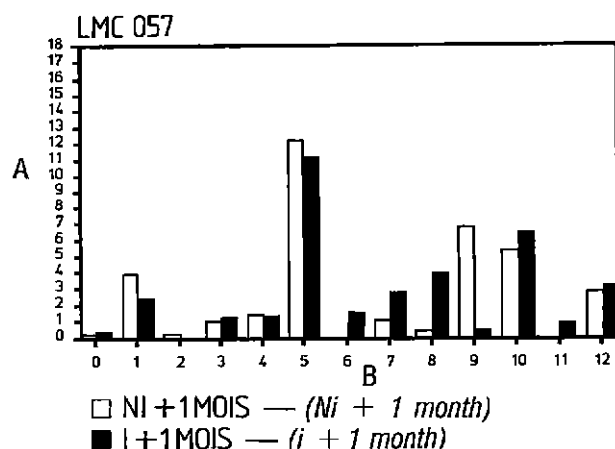


FIG. 5a — LMC 057 (tolérant) — (LMC 057 — tolerant)

— incubation 15 jours.

Les synthèses du clone tolérant (LMC 057) sont nettement stimulées par l'inoculation ; les surfaces des pics sont multipliées par 2 et plus pour les pics 1 à 8 (Fig. 4a). Le clone LMC 052 réagit plus faiblement en moyenne ; les stimula-

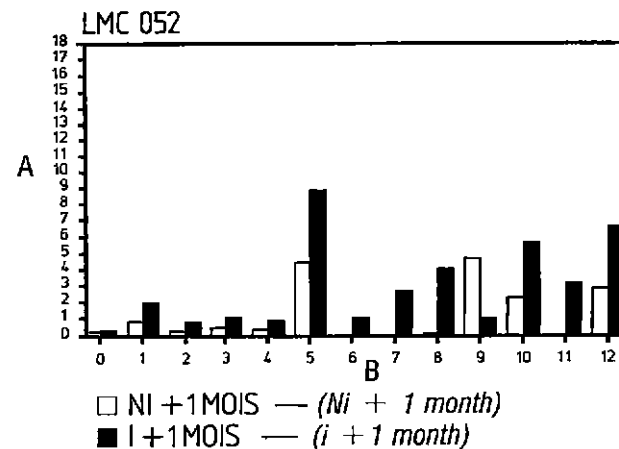


FIG. 5b. — LMC 052 (sensible) — (LMC 052 — susceptible)

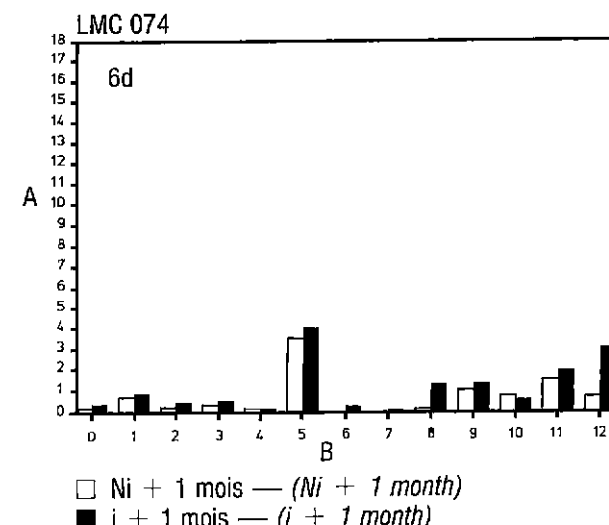
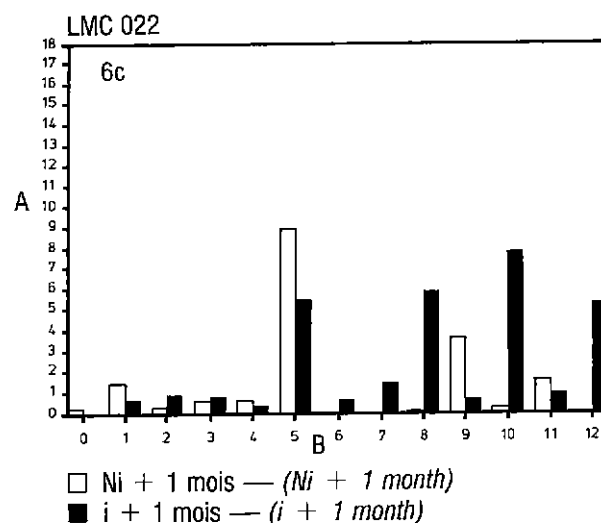
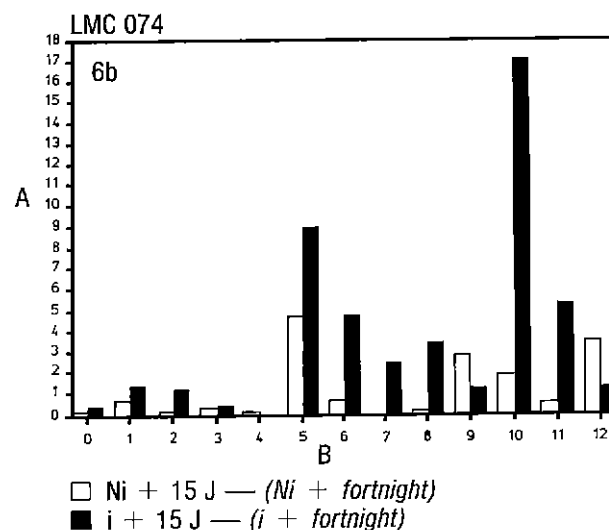
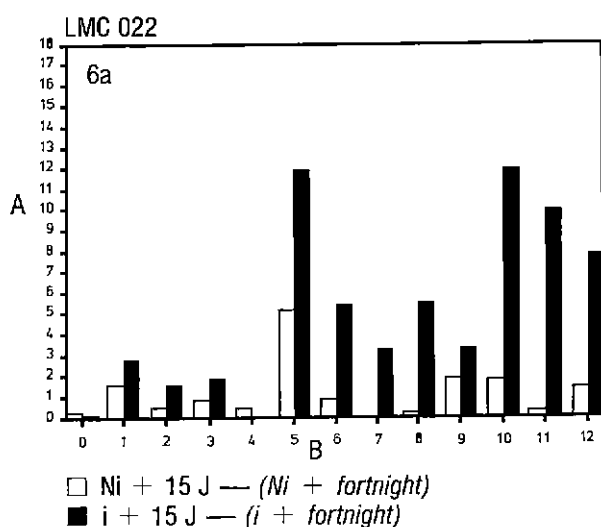


FIG. 6. — LMC 022 — (LMC 022) — LMC 74 — (LMC 74).

A. Surfaces/100 (milliers) — (Areas/100 - thousands)

B. N° de Pic — (Peak N°)

tions de synthèse sont en particulier peu marquées sur les pics 2, 3 et 5 (Fig. 4b).

On note un léger accroissement des synthèses sur le clone tolérant pour le pic 9 alors qu'on assiste à une diminution des synthèses du même pic pour le clone sensible (Fig. 4a et b).

Les composés 10, 11, 12 sont produits en forte quantité après l'inoculation mais les niveaux de synthèse semblent peu dépendants du génotype. Le clone LMC 057 est plus riche qualitativement et quantitativement en composés constitutifs que le clone LMC 052. Les substances 6 et 10 sont naturellement présentes dans le clone tolérant ; le pic 7 est absent chez les plants non inoculés des 2 clones.

Les différences entre le clone tolérant LMC 022 (Fig. 6a) et le clone sensible LMC 074 (Fig. 6b) sont bien marquées : les synthèses sont plus importantes pour le clone tolérant que pour le clone sensible ; les substances les plus importantes se situent au niveau des pics 1, 2, 3, 5, 6, 8, 11 et 12. Le composé 10 est plus important sur LMC 074 que sur LMC 022 et, comme dans le couple précédent LMC 057/052, on constate un accroissement de synthèse sur le pic 9 pour le clone tolérant, alors que pour le clone sensible LMC 074 on assiste à une régression de la synthèse.

— incubation 1 mois.

Un mois après l'inoculation, les synthèses se réduisent considérablement sur les lots inoculés dans les 2 clones ainsi que les différences entre plants inoculés et plants non inoculés (Fig. 5a, 5b) ; le pic 5 se maintient plus élevé pour

LMC 057 que pour LMC 052. Les composés constitutifs correspondant aux pics 1, 5, 9 sont plus importants pour le clone LMC 057 que pour le clone LMC 052.

Un mois après l'inoculation, le clone LMC 022 maintient une réponse à l'inoculation pour la plupart des pics (mais essentiellement les pics 5, 7, 8, 10), alors que le clone LMC 074 ne présente pas de différence entre le lot inoculé et le lot non inoculé (Fig. 6c, 6d).

CONCLUSION

Après l'inoculation, les niveaux de synthèse sont accrus en masse dans les lots inoculés mais une chute globale de ces synthèses intervient moins d'un mois après l'inoculation ; les substances les plus rémanentes correspondent aux pics 1, 5, 6, 7, 8. L'étude d'un couple « plants inoculés »/« plants non inoculés » permet d'expliquer la réaction individuelle du clone à l'infection. L'étude d'un couple « clone tolérant »/« clone sensible » permet de comparer le comportement de 2 clones. Les résultats montrent que pour appréhender la tolérance d'un génotype, il convient de prendre en compte non seulement les teneurs du matériel végétal en composés constitutifs mais aussi d'analyser l'intensité de la réponse à l'infection.

Ces études conduites à un stade précoce par analyses CLHP constituent un outil de sélection intéressant, venant renforcer les résultats acquis par les inoculations.

SUMMARY

HPLC analysis of substances produced by oil palm and implicated in resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* — Prospects for selection.

S. DIABATE, B. TAQUET, J. L. RENARD, H. de FRANQUEVILLE and P. REISER, *Oléagineux*, 1990, 45, N° 2, p. 49-55

The principle of the high performance liquid chromatography (HPLC) technique lies in the fine separation and quantification of substances produced by oil palm roots inoculated, or not, with *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*. The substances are detected by absorption in ultraviolet at 280 nm, which makes it possible to detect benzoic acid, cinnamic acid or flavonoid derivatives. This technique was used to identify two groups of compounds playing an important role in Vascular Wilt expression : one of them is significantly correlated to the tolerance level expressed in the prenursery, the other participates in disease expression depending on climatic factors. The aim is to analyze syntheses of these compounds and compare the results obtained with those of prenursery indexes, so as to detect resistance potential and crosses which prove susceptible when planted

RESUMEN

Análisis por HPLC de las sustancias producidas por la palma africana que actúan en la resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* — Perspectivas para la selección.

S. DIABATE, B. TAQUET, J. L. RENARD, H. de FRANQUEVILLE y P. REISER, *Oléagineux*, 1990, 45, N° 2, p. 49-55.

El principio de la técnica de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) radica en la separación fina y en la cuantificación de las sustancias producidas en las raíces de palma africana sin inocular e inoculadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*. Las sustancias se detectan por absorción en ultravioleta a 280 nm, lo cual permite evidenciar derivados del ácido benzoico, del ácido cinámico o de flavonoides. Esta técnica condujo a identificar dos grupos de compuestos que desempeñan un importante papel en la expresión de la fusariosis : el uno evidencia una correlación significativa con el nivel de tolerancia expresado en presemillero, y el segundo participa en la expresión de la enfermedad según los factores climáticos. El propósito es el de analizar las síntesis de estos compuestos, comparando los resultados logrados con los de índices de presemillero, con el fin de descubrir las potencialidades de resistencia y los cruzamientos que resultan sensibles en la plantación.

HPLC analysis of substances produced by oil palm and implicated in resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*

Prospects for selection

S. DIABATE (1), B. TAQUET (1), J.-L. RENARD (2), H. de FRANQUEVILLE (1) et P. REISER (1)

INTRODUCTION

Vascular Wilt is the most serious oil palm disease in Africa. Chemical control of a vascular fungus of telluric origin is currently unthinkable for a perennial plant covering large areas and the search for tolerant planting material is the only channel open for controlling Vascular Wilt. Selection is based on an inoculation test on young plantlets at the prenursery stage and the field performance of oil palms in a Vascular Wilt infected zone. These tests are also applied to crosses intended for specific or general combining ability tests and to planting material introductions so as to detect possible sources of resistance.

This research has led to good characterization of the planting material produced by IRHO and, from a practical point of view, only the most tolerant categories of crosses are proposed for Vascular Wilt infected areas.

Whilst this selection criterion produces good results, it does not provide a total guarantee of cross performance; among other things, some crosses which are resistant at the nursery stage reveal a certain susceptibility in the field. It is becoming increasingly important to be strict in one's choice of planting material for replantings, since these are highly propitious situations for development of the disease in the first 4 to 5 years after planting. Better characterization of crosses has therefore become necessary.

Generally speaking, it is known that considerable physiological changes occur in the roots and pseudobulbs of oil palm plantlets in the first few weeks following infection; these substances are derived from 2 biosynthesis channels: that of acetyl coenzyme A towards lipid derivatives and that of shikimic acid towards phenolic compounds; the latter seems to be the more highly stimulated. In particular, benzoic acid and cinnamic acid derivatives, along with their derivatives and flavonoids accumulate in the tissues.

This information appeared interesting enough to try and establish synthesis differences between genotypes, so as to characterize defence reactions and, if possible, define resistance markers.

I. — MATERIAL AND METHOD

I.1. — Inoculation.

The plantlets are inoculated in the collar as per the standard method used in routine tests with an inoculum obtained from a ground culture of *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (FOE) in a liquid medium. Each plantlet receives between 2 and 3×10^6 propagules.

Non-inoculated plants are used as controls. Samples for analysis are taken at various intervals after inoculation; only the roots are kept for analysis.

I.2. — Preparation of raw extracts.

After measuring the weight of fresh tissue, the roots are cut up into small pieces to give a homogeneous sample equivalent to 20 g of fresh tissue. The root tissue is frozen and kept in a freezer. The roots are then ground up in a volume of 100 ml of cold ethanol. The mixture obtained in this way is left to diffuse for 24 hours in the dark. The liquidized roots are then vacuum dried and added to 4 ml of ethanol.

— Quantitative analysis of total phenolic compounds.

The quantitative analysis of total phenolic compounds in the roots is carried out according to the Folin Ciocalteu method using fresh tissue weight equivalence.

It does not enable a qualitative assessment to be made of the phenolic type products elaborated by the root tissues.

— Analysis of root extracts by high performance liquid chromatography (HPLC).

HPLC permits fine separation of the constituents in the root extract.

Depending on their affinity for the elution solvent, the components have different retention times in the silica column.

Isocratic separation is carried out in graduations, where 4 elution solvents of increasing polarity are used in succession. Four distinct groups of substances (groups α , β , γ , δ) are obtained, detected in UV light by absorption at 280 nm. Derivatives of benzoic acid and of cinnamic acid were identified, along with flavonoids.

In the α peak, which groups together a large proportion of the most fungitoxic defence components, 13 products were detected with retention times of between 2 and 12 min.

On this experimental basis, the results obtained on clones in three sets of trials are given below:

set 130 MV: analyses concentrated on inoculated plants (I) and other non-inoculated plants (NI); samples were taken 3 and 6 weeks after inoculation.

set 134 MV: this trial only involved inoculated plants analyzed 3 weeks, 6 weeks and 5 months after inoculation; this last stage corresponds to the end of the routing test in the prenursery and makes it possible to obtain the clone index.

set 134 BIS: this particular trial involves most of the clones in set 134 MV. Inoculated and non-inoculated plants are analyzed a fortnight, 1 month, 2 months and 3 months after inoculation. The results in this set of trials are compared to the classification of the same clones obtained in set 134 MV.

II. — RESULTS

II.1. — Quantitative analysis of total phenolic compounds.

Table I compares the results of mean concentrations of phenolic compounds with those for Vascular Wilt indexes established in the prenursery by inoculation with FOE. No significant correlation is revealed by this overall study, which brings into play a set of substances, whether degraded or not, whose respective roles cannot be evaluated by this comparison. Finer separation by HPLC was undertaken to improve the sensitivity of the method.

II.2. — Microanalysis by HPLC.

The mean areas of each of the products detected (4 replications per treatment) are grouped together on a histogram, making it possible to obtain a mean chromatographic profile for each clone.

II.2.1. — Overall response to inoculation.

Figures 1a and 1b show the comparative state of syntheses a fortnight and a month after inoculation, on inoculated plants (I) and non-inoculated plants (NI). At the first stage (fortnight), the inoculated material, all clones combined, reveals distinctly higher synthesis levels than the non-inoculated controls, for all the peaks (Fig. 1a). The production of compounds 0 and 9 seems to be independent of inoculation; on the other hand, there is high synthesis for inoculated plants at peaks 5, 6, 7 and 8. A month after

(1) Plantation expérimentale Robert Michaux - B.P. 8 - Dabou - Côte-d'Ivoire

(2) Directeur, IRHO/CIRAD Phytopathologie Division - B.P. 5035 - 34032 Montpellier Cedex - France.

infection, the plant response can still be seen, though to a lesser extent (Fig. 1b). Between a fortnight and a month after inoculation, there is a sharp drop in areas in inoculated plants (Fig. 2) and a constant production level in non-inoculated plants (Fig. 3).

These results show that the biochemical pathway of oil palm defence reaction mechanisms to FOE is rapidly installed and that maximum synthesis occurs in the first month after infection. The most affected constituents correspond to peaks 5 to 12, with maximum stimulation of synthesis on peaks 6, 7 and 8, with, on the other hand, synthesis regression on peak 9, which is more distinct after 1 month than after a fortnight.

II.2.2 — Individual clone response.

The chromatographic profiles of clones LMC 057 (tolerant — index 37) and LMC 052 (susceptible — index 135) are shown in figures 4 and 5. An analysis of these histograms a fortnight and a month after inoculation shows.

— After a fortnight's incubation.

The syntheses of the tolerant clone (LMC 057) are markedly stimulated by inoculation; the areas of the peaks are multiplied by 2 or more for peaks 1 to 8 (Fig. 4a). Clone LMC 052 reacts less on average; synthesis stimulations are particularly indistinct on peaks 2, 3 and 5 (Fig. 4b).

There is a slight increase in synthesis on the tolerant clone for peak 9, whereas there is reduced synthesis for the same peak in the case of the susceptible clone (Fig. 4a and 4b).

Compounds 10, 11 and 12 are produced in large quantities after inoculation, but synthesis rates seem to depend little on the genotype. Clone LMC 057 is qualitatively and quantitatively richer in constituent compounds than clone LMC 052. Substances 6 and 10 are naturally present in the tolerant clone; peak 7 is absent in the non-inoculated plants of both clones.

The differences between the tolerant clone LMC 022 (Fig. 6a) and the susceptible clone LMC 074 (Fig. 6b) are distinct; syntheses are greater for the tolerant clone than for the susceptible clone; the

most ample substances are at peaks 1, 2, 3, 5, 6, 8, 11 and 12. Compound 10 is more substantial in clone LMC 074 than in LMC 022 and, as in the previous pair LMC 057/052, an increase in synthesis can be seen on peak 9 for the tolerant clone, whereas for the susceptible clone, LMC 074, there is synthesis regression.

— After 1 month's incubation.

A month after inoculation, syntheses are considerably reduced in the inoculated batches of both clones, as are the differences between inoculated and non-inoculated plants, (Fig. 5a, 5b) peak 5 remains higher for LMC 057 than for LMC 052. The constituent compounds corresponding to peaks 1, 5 and 9 are greater for clone LMC 057 than for clone LMC 052.

A month after inoculation, clone LMC 022 maintains a response to inoculation for most peaks (but essentially peaks 5, 7, 8 and 10), whereas in clone LMC 074, there is no difference between the inoculated and non-inoculated batches (Fig. 6c, 6d).

CONCLUSION

After inoculation, synthesis levels are increased on mass in the inoculated batches, but there is an overall drop in synthesis less than a month after inoculation, the most remanent substances correspond to peaks 1, 5, 6, 7 and 8. The study of an « inoculated plants »/« non-inoculated » plants pair provides an explanation for the individual reaction of a clone to infection; the study of a « tolerant clone »/« susceptible clone » pair makes it possible to compare the performance of 2 clones. The results show that, in order to perceive the tolerance of a genotype, not only should the constituent compound contents of the planting material be taken into account, but the intensity of the response to infection should also be analyzed.

These studies, conducted at an early stage through HPLC, provide an interesting selection tool, backing up the results acquired through inoculation.

BON DE COMMANDE NUMÉROS SPÉCIAUX

A retourner à : *return to :* reexpidase a :

OLÉAGINEUX - 11, Square Pétrarque, 75116 Paris (France) — Tél. : (1) 45 53 60 25 — Téléc. : 630491 — Télécopie : 45 53 68 11

Nom (Name - Nombre)

Adresse (Adress - Dirección)

.....

.....

Doc.	Quantité (Quantity - Cantidad)	Prix de vente (Sale price - Precio de venta)		date 198
		FRANCE (TTC)	ETRANGER	
A	68 FF	72 FF.	Signature :
B	94 FF	102 FF.	
C	104 FF	123 FF.	
D	84 FF	82 FF.	
E	225 FF	245 FF.	

Règlement par chèque bancaire (Enclose bank cheque made out to - Pago por cheque bancario a) :

IRHO-OLÉAGINEUX

Banque Nationale de Paris — Agence Kléber — 51, avenue Kléber, 75116 Paris (France) — RIB 30004 — 00892 — 00000430596 — clé 21